

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 次世代がん医療創生研究事業
(英語) Project for Cancer Research and Therapeutic Evolution
- 研究開発課題名： (日本語) 革新的 PET プローブ分子 ^{18}F FBPA の効率的合成法の開発とがん特異的
集積能の検証評価
(英語) Development of an efficient novel synthetic method for ^{18}F FBPA and
biological evaluation of its cancer specificity in accumulation as
an innovative PET probe
- 研究開発担当者 (日本語) 公立大学法人大阪府立大学 研究推進機構 客員教授 切畑 光統
所属 役職 氏名： (英語) Osaka Prefecture University, Organization for Research Promotion,
Guest Professor, Mitsunori KIRIHATA
- 実施期間： 平成 28 年 5 月 25 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究 (日本語) ^{18}F -FBPA-PET による in vivo 薬物動態の解明
開発課題名： (英語) Analysis of in vivo pharmacokinetics of ^{18}F -FBPA by PET
- 研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人大阪大学大学院医学系研究科 教授 畑澤 順
所属 役職 氏名： (英語) Osaka University Graduate School of Medicine, Professor, Jun Hatazawa
- 分担研究 (日本語) $^{18}\text{F}^-$ による ^{18}F -FBPA の効率的な新規大量合成方法の確立と ^{19}F -FBPA に
よる安全性確認
開発課題名： (英語) Establishment of an efficient new synthetic method of ^{18}F -FBPA using
 ^{18}F -fluorine and confirmation of its safety by ^{19}F -FBPA
- 研究開発分担者 (日本語) ステラファーマ株式会社 開発本部 常務取締役開発本部長 上原 幸樹
所属 役職 氏名： (英語) Koki UEHARA
STELLA PHARMA CORPORATION,
Executive officer, general manager of clinical development

II. 成果の概要（総括研究報告）

本プロジェクト研究では、次の①～③の3つの課題および課題毎に研究目標（マイルストーン）を設定して効率的に研究を推進し、当初の目標を概ね達成した。

① $^{18}\text{F}^-$ による ^{18}F -FBPA の効率的な新規大量合成方法の確立

- ・ 合成経路1による合成法の確立：L-フェニルアラニン前駆体をフッ素化、ボロン酸導入する新規合成経路を考案、フッ素化反応の脱離基を決定、各工程の反応条件の最適化を行った。
- ・ 前駆体アミノ酸部の不斉合成：光学純度 98%e.e 以上の L-フェニルアラニン前駆体の合成法を確立した。

② ^{19}F -FBPA を用いた *in vitro* および *in vivo* での薬物動態の解明と安全性データの取得

- ・ ^{19}F -FBPA の大量合成：今後の生物検証、安全性試験に不可欠な安定同位体フッ素 ^{19}F を含む L- ^{19}F -FBPA の高純度体を百グラム単位で合成した。
- ・ *in vivo* 動態の解明：ICP ホウ素分析抗体および青色蛍光ホウ素センサー-DAHMI を用いて種々のがん細胞における ^{19}F -FBPA のマイクロ分布を画像化・可視化、 ^{19}F -FBPA は細胞質、核内に広く分布することが確認された。
- ・ 高感度 ELISA 分析法の開発：ICP 分析より高感度な抗 FBPA 抗体による ELIS 分析法を開発した。
- ・ DAHMI によるマイクロ分布解析とライブセル応用：がん細胞における FBPA のマイクロ分布を、抗体および青色蛍光ホウ素センサー-DAHMI により画像化して、FBPA が細胞質から核内に広く分布することを確認した。また、DAHMI の低毒性、膜透過性を活用して、 ^{19}F -FBPA の動態をライブセルで画像化・可視化することに成功、がん細胞による取り込みを経時的に検証した。

③ ^{18}F -FBPA-PET による *in vivo* での薬物動態の解明

- ・ ^{18}F -FBPA の *in vivo* 動態評価： $^{18}\text{F}^+$ (エフプラス)法で調整した ^{18}F -FBPA を用い、担がんラットおよび正常ラットにおける動態を、PET、CT 画像より検証評価、PET プローブとしての有用性を確認した。

英文

The efficient synthetic route of ^{18}F -FBPA using L-phenylalanine derivatives as a precursor was newly developed. In this synthetic route, two key steps, fluorination and boronic acid introduction reactions were examined under various conditions. In the fluorination reaction the highest yield was obtained when pinacolborate group was used as a leaving group. The precursor, 2,4-disubstituted L-phenylalanine derivative, having 98% e.e was synthesized by usual way.

In order to evaluate biological activities of FBPA involving safety test, ^{19}F -FBPA which contained stable ^{19}F -fluorin atom was synthesized in large scale as pure state having high chemical and optical purities by chemical-enzymatic hybrid process. We revealed the pharmacokinetics of ^{19}F -FBPA and its mother compound BPA was homologous *in vivo* using the synthetic ^{19}F -FBPA.

Two FBPA detection method *in vitro* and *in vivo* based on anti-FBPA antibody and fluorescent boron sensor “DAHMI” were newly developed. ^{19}F -FBPA was found to be distributed in the cytoplasm and nucleus of tumor cells by antibody and fluorescent sensor staining. Temporal ^{19}F -FBPA uptake by tumor live cells was also visualized by DAHMI staining.

By PET analysis using ^{18}F -FBPA prepared by current $^{18}\text{F}^+$ method, ^{18}F -FBPA was selectively up-taken by tumor cells and did not accumulate in brain and inflamed tissues. These results suggest that ^{18}F -FBPA is promising as a new probe for PET analysis.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 2 件）

1. Hattori Y, Ishimura M, Ohta Y, Takenaka H, Kirihata M, Visualization of Boronic Acid Containing Pharmaceuticals in Live Tumor Cells Using a Fluorescent Boronic Acid Sensor, *ACS Sens.*, **2016**; 1 (12): 1394-1397.
2. Watanabe T, Hattori Y, Ohta Y, Ishimura M, Nakagawa Y, Tanaka H, Fukutani S, Masunaga S, Hiraoka M, Ono K, Suzuki M, Kirihata M, Comparison of the pharmacokinetics between L-BPA and L-FBPA using the same administration dose and protocol: a validation study for the theranostic approach using [^{18}F]-L-FBPA positron emission tomography in boron neutron capture therapy, *BMC Cancer*, **2016** Nov 8; 16 (1): 859.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. ドデカボレート ($[\text{B}_{12}\text{H}_{11}]^{2-}$) をホウ素ユニットとする BNCT 用ホウ素化合物の合成と評価—スルフィド結合形成による BSH の有機分子化—、口頭、切畑光統、第 45 回放射線による制癌シンポジウム、2016/7/15、国内
2. 産学官連携による高純度 ^{10}B -L-BPA の応用開発—BNCT の実現を目指して—、口頭、切畑光統：第 13 回日本中性子捕捉療法学会学術大会、2016/8/6、国内
3. ^{18}F -FBPA の新規合成法の開発、口頭、金井泰和、大田洋一郎、服部能英、田口祐輔、竹中宏志、上原幸樹、仲定弘、堺俊博、下瀬川恵久、畑澤順、切畑光統：第 13 回日本中性子捕捉療法学会学術大会、2016/8/6、国内
4. 新規蛍光型ホウ素センサーの設計・合成と L-BPA の定量分析への応用、口頭、服部能英、石村美紀、大田洋一郎、竹中宏志、切畑光統：第 13 回日本中性子捕捉療法学会学術大会、2016/8/6、国内
5. BNCT に用いるホウ素薬剤について、口頭、切畑光統、BNCT シンポジウム、2016/9/14、国内
6. 分子プローブを用いたホウ素薬剤の分布解析、口頭、服部能英、第 10 回光生体超分子化学セミナー、2016/12/9、国内
7. Current Status of Boron Neutron Capture Therapy in Japan: Prospect of Accelerator Cyclotron and Research Reactor for R&D on Boron Compound Pharmaceutical of BNCT, 口頭、切畑光統、International Symposium The Application of Nuclear Technology to Support National Sustainable Development: Health, Agriculture, Energy, Industry and Environment, 2016/8/10、国外

8. Detection of Boron-Pharmaceuticals in Live Cancer Cells Using Fluorescent Boron-Sensor, ポスター、服部能英、石村美紀、大田洋一郎、竹中宏志、切畑光統、17th International Congress on Neutron Capture Therapy、2016/10/2、国外
9. [¹⁸F]HF⁻イオンからの FBPA 新規合成法の開発、口頭、金井泰和、大田洋一郎、服部能英、竹中宏志、上原幸樹、仲定宏、堺俊博、下瀬川恵久、切畑光統、畑澤順、日本薬学 2017/3/14 国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
なし

(4) 特許出願
なし